Cryptogamie, Algol., 1989, 10 (3): 247-256

FIXATION DU CARBONE A L'OBSCURITÉ CHEZ *FUCUS SERRATUS, FUCUS VESICULOSUS* (PHEOPHYCÉES, FUCALES) ET *CHONDRUS CRISPUS* (RHODOPHYCÉES, GIGARTINALES).

A. COUDRET*, F. FERRON**, P. JOLIVET** et G. TREMBLIN***

* Laboratoire de Photomorphogenèse, U.A. 45
Université de Clermont-Ferrand II, 4, rue Ledru
63038 Clermont-Ferrand Cedex, France.

** Laboratoire de Chimie biologique et de Photophysiologie,
Institut National Agronomique, Centre de Grignon
78850 Thiverval-Grignon, France.

*** Laboratoire de Physiologie Végétale,
Faculté des Sciences, Université du Maine
72017 Le Mans Cedex France.

RÉSUMÉ - L'intensité de l'incorporation à l'obscurité du $^{14}CO_2$ et la vitesse d'apparition de métabolites marqués sont suivies chez trois macroalgues de la zone intertidale: *Fucus serratus* L. *Fucus vesiculosus* L. et *Chondrus crispus* Stackhouse.

La cinétique des réactions succédant à la fixation du CO_2 varie suivant les espèces étudiées et seuls deux métabolites, l'aspartate et le glutamate, sont présents dans les trois cas. Chez les algues brunes, une quantité importante de $^{14}CO_2$ est rapidement incorporée dans le glycerate, alors que l'on ne retrouve pas d'acides organiques marqués chez l'algue rouge; aussi quelques hypothèses sur les éventuelles filiations métaboliques sont proposées.

Pour la fixation du CO_2 à l'obscurité, il se confirme l'existence d'un métabolisme commun aux *Fucus*, différent de celui du *Chondrus crispus*. La principale originalité de ce métabolisme du carbone à l'obscurité est, surtout chez les algues brunes, son incorporation rapide, continue et intense dans un composé à cinq atomes de carbone: le glutamate; c'est pourquoi, parmi les espèces étudiées ici, le *Fucus serratus*, qui présente le plus fort taux de β-carboxylation avec une intense incorporation du ^{14}C dans le glutamate, sera retenu comme modèle lors d'études complémentaires pour préciser les éventuelles particularités de ce métabolisme.

ABSTRACT - The intensity of the short term rate of dark $^{14}CO_2$ incorporation was studied in three species, *Fucus serratus* L., *Fucus vesiculosus* L. and *Chondrus crispus* Stackhouse of intertidal algae and the kinetics of the production of so me radioactive metabolites in these conditions were determined. In all the species studied carbon dioxide was assimilated at different levels, but only two common labelled metabolites, aspartate and glutamate, were

Source : MNHN, Paris

found. An important level of radiocarbon was quickly incorporated into glycerate by the brown algae, but not into the organic acids in the red; the hypothesis of possible metabolic filiations are discussed hereafter. So we confirm that in *Fucus* common metabolic pathways operate for the dark fixation of carbonate, but different in *Chondrus crispus*.

The common originality of this non-photosynthetic metabolism is, in brown seaweeds, the early, intense, and continuous $^{14}C_2$ incorporation into a compound with five carbon atoms: the glutamate. One of the species, *Fucus serratus*, which present an important level of β-carboxylation and an intense carbon fixation in glutamate, could be used to study the characteristics of this matabolism.

MOTS CLÉS : Carboxylation, obscurité, métabolisme, *Chondrus crispus*, *Fucus serratus*, *Fucus vesiculosus*.

ABRÉVIATIONS: GDH: glutamate deshydrogénase; GS: glutamine synthétase; GOGAT: glutamine 2-oxoglutarate amino-transférase; OAA: oxaloacétate; PEP: phosphoénolpyruvate
PEPCK: phosphoénolpyruvate carboxykinase.

INTRODUCTION

La propriété de fixer du CO_2 à l'obscurité a été précédemment démontrée chez de nombreuses algues marines (Akagawa *et al.*, 1972a et b); Graigie, 1963; Joshi *et al.*, 1962; Kremer, 1981). En particulier chez les Phéophycées, il est maintenant bien connu que cette fixation obscure peut représenter une part importante (jusqu'à 20 %) de la fixation photosynthétique du CO_2 (Kremer, 1979; Kremer, 1981). Récemment, certains d'entre nous (Coudret *et al.*, 1987) l'ont confirmé chez une algue brune méditerranéenne *Cystoseira elegans* Sauvageau.

Dans ces conditions particulières de fixation non-photosynthétique du carbone, quelques auteurs ont tenté d'en préciser les voies métaboliques; l'identification des métabolites formés est le plus souvent réalisée après de longues périodes d'incorporation (au moins 10 min), ne permettant pas d'étudier leurs cinétiques d'apparition (Joshi *et al.*, 1962; Penot *et al.*, 1985; Willenbrink *et al.*, 1979). Lors d'incorporation de $NaH^{14}CO_3$ durant de courtes périodes (15 s), Coudret *et al.* (1987), chez *Cystoseira elegans*, ont montré que les métabolites rapidement formés à l'obscurité étaient non seulement le malate et l'aspartate (principaux dérivés de la production primaire d'OAA après β-carboxylation du PEP comme chez les plantes supérieures), mais aussi le glutamate; cette incorporation du $^{14}CO_2$ dans le glutamate avait été déjà signalée chez des algues brunes et rouges (Joshi *et al.*, 1962; Penot *et al.*, 1985) mais pour des temps de charge plus longs (respectivement 60 et 30 min.).

Pour d'assez courtes périodes de charge, à notre connaissance, seuls Craigie (1963), puis Akagawa *et al.*, (1972b), sur des algues brunes ont montré que, parmi les produits initiaux formés à l'obscurité, deux acides aminés, l'aspartate et le glutamate et un acide organique, le citrate (mais pas le malate) sont fortement marqués.

Aussi, l'intensité et la cinétique de l'incorporation obscure du $^{14}CO_2$ dans les métabolites proches de la fixation primaire sont suivies ici pour des espèces (deux algues brunes et une algue rouge) se développant dans des conditions très différentes des cystoseires précédemment étudiées; soumises dans leur milieu na-

Source : MNHN, Paris

turel au balancement des marées et à des niveaux d'éclairement moins élevés et plus fluctuants, elles présentent de plus par rapport à la cystoseire, un impact écologique de plus grande importance (aire de répartition plus étendue et intense production de biomasse).

Afin de faciliter une éventuelle comparaison des résultats, les conditions expérimentales d'exposition au $NaH^{14}CO_3$ durant de courtes périodes et à l'obscurité restent celles précédemment retenues pour les cystoseires (Coudret *et al.*, 1987).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 - Matériel végétal

Les thalles de *Fucus serratus* L., de *Fucus vesiculosus* L. et de *Chondrus crispus* Stackhouse utilisés ont été récoltés près d'Arromanches (Calvados - France). Transportés au laboratoire, ils sont nettoyés puis placés en immersion constante durant deux semaines en aquarium rempli d'eau de mer (filtrée et continuellement aérée), prélevée dans la zone de récolte des algues. La température de l'eau est de 15°C et un éclairement moyen, de 100 μmoles m^{-2} s^{-1} est fourni 15h sur 24 (Licor, 400-700 nm).

2 - Incorporation à l'obscurité du ^{14}C dans la matière organique et étude des métabolites formés.

Chez les *Fucus*, la plus forte capacité à fixer le carbone à l'obscurité est observée dans les parties terminales en croissance (Kuppers & Kremer, 1978); aussi pour les trois espèces étudiées, des fragments de thalle (1g de matière fraiche) sont prélevés dans ces parties en croissance active, puis préconditionnés 2h en eau de mer à 15°C sous lumière saturante (800 μmoles m^{-2} s^{-1}) avant d'être placés à l'obscurité. Après 2h de conditionnement en chambre noire, les fragments sont transférés, durant des temps de charge variables (15, 45, 120, 360 ou 1200s), dans de l'eau de mer contenant du $NaH^{14}CO_3$ (370 KBq ml^{-1}, radioactivité spécifique 20 GBq $mmoles^{-1}$), puis après rinçage rapide, ils sont plongés dans l'azote liquide. Les métabolites issus des carboxylations et des réactions qui les suivent, sont extraits dans l'éthanol à 50% (v/v, dans l'eau) en présence de Dowex 50 (forme H^+), de NaF et de KBH_4, puis ils sont séparés par électrophorèse à haut voltage et chromatographie sur couche mince (Coudret *et al.*, 1985). La radioactivité incorporée est mesurée par scintillation liquide après identification des substances isolées par autoradiographie.

La radioactivité incorporée dans la fraction insoluble est mesurée et comparée à celle de la fraction soluble; les résultats ne sont pas pris en compte car le pourcentage de radioactivité incorporée dans cette fraction insoluble représente toujours moins de 1% de la radioactivité incorporée dans la matière organique totale.

Les résultats (moyenne de 2 ou 3 répétitions) sont exprimés en nombre d'impulsions par minute (ipm) par milligramme de matière végétale fraiche ou en

Source : MNHN, Paris

pourcentage de la radioactivité totale incorporée à l'obscurité dans la matière organique soluble.

L'acide glutamique est dosé selon la méthode préconisée par Boehringer, Mannheim dans laquelle le NADH formé lors de l'action de la glutamate deshydrogénase sur l'acide glutamique est suivi colorimétriquement (Beutler & Michal, 1974).

RÉSULTATS

1 - Incorporation du ^{14}C dans la matière organique soluble.

Le taux de $^{14}CO_2$ fixé dans la matière organique soluble, suivi entre 15 et 1200s d'exposition au $NaH^{14}CO_3$ augmente en fonction du temps chez les trois espèces étudiées (Figure 1).

La cinétique d'incorporation du $^{14}CO_2$ est identique chez les trois espèces lors des premiers temps de charge (15, 45 et 120s); pour de plus longues périodes

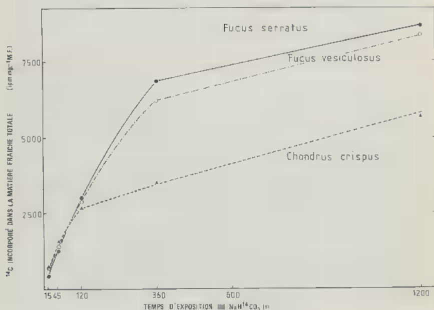


Fig. 1 - Radioactivité incorporée (en ipm par milligramme de matière fraîche) dans la matière organique soluble en fonction du temps de charge (secondes) avec $NaH^{14}CO_3$.

Source : MNHN, Paris

(360 et 1200s) l'incorporation du $^{14}CO_2$ augmente de façon similaire chez les *Fucus*, et plus modérément pour le *Chondrus crispus*.

2 - Incorporation du^{14}C dans les métabolites.

Chez les trois algues étudiées et durant ces courtes périodes de charge, seulement quelques acides aminés et quelques acides organiques sont marqués (Figure 2).

Chez les *Fucus*, cinq métabolites sont identifiés avec des taux de radioactivité très différents: dès 15s de charge, trois composés chez lesquels l'incorporation du

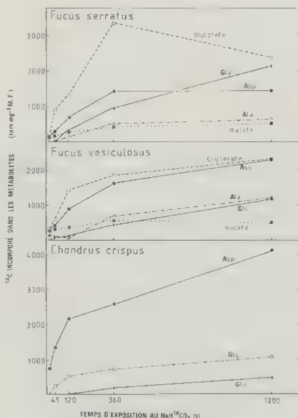


Fig. 2 - Radioactivité incorporée (en ipm par mg de matière fraîche) dans les différents métabolites en fonction du temps de charge (secondes) avec NaH^{14} CO_3. - Glu (glutamate), Asp (Aspartate), Ala (Alanine), Gly (glycine).

Source : MNHN, Paris

Algue	Composé	Temps d'exposition en Na $H^{14}CO_3$ (s)				
		15	45	120	360	1200
Fucus serratus	Glycérate	46	72	45	49	27
	Aspartate	32	14	27	21	19
	Malate	22	14	9	6	6
	Glutamate	0	0	11	14	25
	Alanine	0	11	5	6	[illegible]
Fucus vesiculosus	Glycérate	45	42	48	30	29
	Aspartate	36	30	30	26	29
	Malate	19	22	13	8	6
	Alanine	0	3	4	11	14
	Glutamate	0	3	5	7	14
Chondrus crispus	Aspartate	100	85	[illegible]	74	73
	Glycine	0	15	20	21	19
	Glutamate	0	[illegible]	0	5	8

Tableau 1 - Répartition du ^{14}C dans les principaux métabolites identifiés (en p. 100 de la radioactivité totale incorporée à l'obscurité) en fonction du temps de charge avec Na $H^{14}CO_3$.

^{14}C est respectivement décroissante (le glycérate, l'aspartate et le malate), puis, plus tardivement deux acides aminés (le glutamate et l'alanine) chez lesquels les taux d'incorporation du ^{14}C sont similaires pour le *Fucus vesiculosus* et plus élevés dans le glutamate pour le *Fucus serratus*.

Chez l'algue rouge, *Chondrus crispus*, quel que soit le temps de charge (dans la gamme utilisée ici), on ne trouve du ^{14}C en quantité mesurable que dans des acides aminés (aspartate, glutamate et glycine), avec une part très importante dans l'aspartate (73 %) et des niveaux beaucoup plus faibles dans la glycine et le glutamate (respectivement 19 et 8% pour la plus longue période de charge).

Si, après 20 min. d'incubation des thalles avec $NaH^{14}CO_3$ nous comparons la part relative du ^{14}C incorporé dans l'ensemble des métabolites (tableau I), il est possible de déterminer le principal produit marqué et accumulé en fin de charge pour chaque espèce: l'aspartate domine nettement chez le *Chondrus crispus*, le glutamate et le glycérate chez le *Fucus serratus*, le glycérate et l'aspartate chez le *Fucus vesiculosus*; le malate n'est trouvé que chez les algues brunes, sa part relative diminuant de plus en plus lorsque le temps de charge augmente.

INTERPRÉTATION ET CONCLUSIONS

La capacité d'assimiler le CO_2 à l'obscurité, donc indépendamment de la photosynthèse est fréquemment observée, aussi bien chez les macroalgues que chez les microalgues; de plus, comparées aux algues rouges et vertes, les algues brunes présentent généralement une plus grande capacité à fixer le CO_2 en ab-

Source : MNHN, Paris

sence de lumière (Kremer & Kuppers, 1977). C'est ce que nous observons chez les trois espèces étudiées ici (une algue rouge et deux algues brunes).

Toutefois, comme Joshi *et al.* (1962) nous pensons que cette généralisation est un peu rapide, cela ne semblant pas toujours le cas: dans nos expériences, si le taux de radioactivité incorporée à l'obscurité est important et équivalent chez les deux espèces de *Fucus*, il est loin d'être négligeable chez *Chondrus crispus*; de plus pour des conditions expérimentales identiques, *Chondrus crispus* fixe plus de carbone, quel que soit le temps de charge, que deux espèces de cystoseire expérimentées par ailleurs: *Cystoseira elegans* (Coudret *et al.*, 1987), *Cystoseira barbata* (Good. et Wood.) C. Ag. (résultats non publiés). En accord avec les travaux de Craigie (1963), ces différences de comportement peuvent s'expliquer par les prétraitements lumineux subis par les thalles antérieurement à la fixation obscure de $^{14}CO_2$: courte période d'éclairement, voire absence totale d'éclairement dans les travaux de Kremer & Kuppers (1977), alors que dans ce travail nous saturons la photosynthèse durant 2h, avant de passer en phase obscure; d'autres causes de variabilité des résultats peuvent provenir de l'état nutritionnel des thalles, ou encore de leur stade de développement au moment des mesures.

Pour les courtes périodes de charge utilisées la presque totalité de la radioactivité incorporée est retrouvée dans la fraction hydro-alcoolique sous forme d'acides aminés et d'acides organiques pour les *Fucus* et uniquement sous forme d'acides aminés pour le *Chondrus crispus*.

Chez le *Fucus serratus*, hormis pour le glutamate, tous les métabolites identifiés présentent des pools saturés après 5 min de charge, ce que l'on n'observe pas chez le *Fucus vesiculosus* sauf pour le malate. Pour la mise en évidence d'éventuelles filiations métaboliques lors des cinétiques de charge, la radioactivité incorporée dans chaque métabolite est exprimée en pour cent de la radioactivité totale mesurée (tableau I). Conformément aux hypothèses proposées pour la cystoseire (Coudret *et al.*, 1987), la synthèse rapide et intense de malate et d'aspartate (55% de la radioactivité totale après 15s) pourrait résulter de la formation préalable d'OAA par carboxylation du PEP comme cela est généralement admis aussi bien chez les végétaux supérieurs que chez les algues (Kremer & Kuppers, 1977). La part importante prise par le glycérate parmi les métabolites après 15s de charge s'explique plus difficilement, peut-être provient-il, directement de l'aspartate par décarboxylation comme l'ont décrit Kulkarni & Nimbalkar (1973) chez *Gracilaria corticata* J. Ag.; le glutamate et l'alanine, qui apparaissent plus tardivement, mais qui représentent une part de plus en plus importante dans l'incorporation du ^{14}C résulteraient de l'aspartate par transaminations successives (hypothèses proposées pour la cystoseire); les sources de l'azote nécessaire à la formation de ces composés pouvant être le pool interne d'acides aminés libres, et ou du NH_4^+ directement prélevé dans l'eau de mer grâce à une éventuelle activité de la GDH ou du système GS-GOGAT. Quoi qu'il en soit, ces filiations restent hypothétiques, la redistribution du ^{14}C semblant se faire non seulement à partir de l'aspartate mais aussi et surtout du malate. Chez le *Fucus vesiculosus* on observe la même évolution avec une disparition plus lente de la radioactivité incorporée dans l'aspartate et un marquage plus précoce du glutamate et de l'alanine (après 45s de charge).

Chez le *Chondrus crispus* le ^{14}C ne s'incorpore après les durées de charge utilisées que dans trois acides aminés (aspartate, glycine et glutamate) dont les

Source : MNHN, Paris

pools ne sont pas saturés même après 20 min. (fig. 2). La filiation semble plus évidente que pour les algues brunes, puisque la radioactivité incorporée en totalité dans l'aspartate (tableau 1) lors de la plus courte charge diminue ensuite au profit de la glycine puis plus tardivement et de façon moins intense au profit du glutamate. La principale différence avec les *Fucus* est qu'aucun acide organique n'apparaît marqué pour les temps de charge utilisés.

Comme chez d'autres Phéophycées (Craigie, 1963; Akagawa *et al.*, 1972b), nous confirmons pour les espèces étudiées ici, que l'aspartate et le glutamate sont les premiers acides aminés marqués lors de la fixation non-photosynthétique du ^{14}C. Parmi les acides organiques nous relevons, comme Mortain-Bertrand (1987) pour des microalgues, un important niveau de radioactivité dans le glycérate et plus modéré dans le malate. Par contre en dehors du malate nous ne relevons pas, comme Craigie (1963) et Akagawa *et al.* (1972b), la présence parmi les métabolites marqués, de citrate alors qu'il est abondant chez *Laminaria digitata* (Huds.) Lamour (Kremer & Markham, 1979); de la même façon chez *Cystoseira elegans* nous n'avions pas détecté de citrate marqué, même après 3h d'incorporation à l'obscurité (résultats non publiés) ce qui laisse supposer que la voie métabolique suivie ici ne passe pas par le cycle des acides tricarboxyliques.

Ainsi, chez les algues brunes, la fixation primaire à l'obscurité du carbone et son incorporation préférentielle dans les acides aminés semblent suivre une voie métabolique commune, reflet du fonctionnement de plusieurs système enzymatiques: une carboxylase, la PEPCK, en premier lieu, dont la présence et le rôle sont maintenant bien établis chez les algues brunes (Akagawa *et al.*, 1972a; Kremer, 1979, Kerby & Evans, 1983), puis de diverses transaminase comme la glutamate oxaloacétate transaminase qui est très active chez les algues brunes (Nakamura *et al.*, 1985). Le glutamate, rapidement et de plus en plus marqué, joue probablement un rôle central dans la synthèse plus tardive et plus diversifiée des autres acides aminés.

Chez l'algue rouge étudiée ici, comme chez *Polysiphonia lanosa* L. (Craigie, 1963) la totalité de la radioactivité incorporée se concentre dans les acides aminés; ce fait peut s'expliquer par une compétition au niveau de la transfor-

Temps d'exposition au $NaH^{14}CO_3$ (s)	*Fucus serratus*		*Fucus vesiculosus*		*Chondrus crispus*	
	Quantité ($\mu g\ mg^{-1}$ M.F.)	R. S. ($ipm\ \mu g^{-1}$)	Quantité ($\mu g\ mg^{-1}$ M.F.)	R. S. ($ipm\ \mu g^{-1}$)	Quantité ($\mu g\ mg^{-1}$ M.F.)	R.S. ($ipm\ \mu g^{-1}$)
15	1,43	-	0,82	-	1,01	-
45	0,55	-	1,07	29	0,94	-
120	0,82	429	0,93	146	0,91	-
360	1,35	701	-	-	0,80	246
1200	1,27	1692	0,58	1598	0,86	523

Tableau II - Évolution de la quantité totale de glutamate (en microgrammes dans 1mg de matière fraîche: M.F.) et de la radioactivité spécifique (R.S.) du glutamate *de novo* (en ipm dans 1μg de glutamate) [redacted] fonction du temps de charge avec Na $H^{14}CO_3$.

Source : MNHN, Paris

mation de l'OAA en malate ou en aspartate (Joshi *et al.*, 1962). Cependant, Kremer *et al.* (1977) ne mesurent pas d'activité PEPCK chez les algues rouges: d'autres voies de fixation à l'obscurité du carbone doivent être envisagées, comme celle du carbamoyl-phosphate proposée par Bird *et al.* (1980) et Boggess & Naylor (1975).

La principale originalité de ce métabolisme du carbone à l'obscurité est, chez les *Fucus* comme chez *Cystoseira elegans* (Coudret *et al.*, 1987), l'augmentation constante de la radioactivité incorporée dans le glutamate; cependant là encore, le pool global de glutamate présent dans l'algue reste stable (tableau II): il se maintient à un niveau voisin de 1g pour 1000g de matière fraîche, non significativement différent (pour $p < 0,05$) chez les trois espèces étudiées et identique à celui mesuré chez la cystoseire. Aussi, l'augmentation régulière de la radioactivité spécifique du glutamate (Tableau II) même après 10 min. de charge est significative d'un renouvellement rapide de cette molécule. Ces faits donnent au glutamate un rôle central à la fois dans la mise en réserve temporaire du carbone issu des β-carboxylations et dans sa redistribution.

Ce rôle, ainsi que les différences de métabolisme observées (prédominance du glutamate chez le *Fucus serratus* et la cystoseire, et de l'aspartate chez le *Fucus vesiculosus*) reste à préciser; aussi, le devenir aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité de ce ^{14}C assimilé par une voie non-photosynthétique est actuellement suivi à la fois chez les *Fucus* et la cystoseire (expériences de chasse).

Enfin, le *Fucus serratus*, disponible tout au long de l'année, sera utilisé comme matériel d'étude dans la suite de nos expérimentations. Comparée aux cystoseires, cette algue brune présente une capacité de β-carboxylations plus élevée et parmi les métabolites identifiés, le glutamate, bien que moins rapidement marqué, représente cependant 25% de la radioactivité incorporée après 1200s d'incubation du thalle en présence de $NaH^{14}CO_3$; il sera donc par la suite retenu comme modèle pour aborder la régulation de l'incorporation et de la distribution du carbone fixé à l'obscurité sous son aspect enzymatique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Mmes Sourie et Bergeron, Laboratoire de Chimie Biologique et de Photophysiologie, INA, Centre de Grignon, et Mme Pradier, Laboratoire de Physiologie végétale, Faculté des Sciences, Université du Maine, pour leur assistance technique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AKAGAWA H., IKAWA T. & NISIZAWA K., 1972a - The enzyme system for entrance of $^{14}CO_2$ in the dark fixation of brown algae. *Pl. Cell. Physiol.* 13: 999-1016.

AKAGAWA H., IKAWA T. & NISIZAWA K., 1972b - Initial pathway of dark $^{14}CO_2$-fixation in brown algae. *Bot. Mar.* 15: 119-125.

BEUTLER H.O. & MICHAL G., 1974 - *In Methods of enzymatic analysis.* Bergmeyer (Eds.). Verlag Chemie, Weinheim, Academic Press. Inc., New York et Londres, IV, pp. 1708-1713.

Source : MNHN, Paris

BIRD K.T., DAWES C.J. & ROMEO J.T., 1980 - Patterns of non photosynthetic carbon fixation in dark held respiring thalli of *Gracilaria verrucosa*. *Z. Pflanzenphysiol.* 98: 359-364.

BOGGESS S.F. & NAYLOR A.W., 1975 - Non-photosynthetic incorporation of bicarbonate into basic amino acid by algae. *Mitchell Soc. J.* 91: 25-28.

COUDRET A., FERRON F. & LAFFRAY D., 1985 - High CO_2 fixation and metabolism in *Vicia faba* leaves. *Photosynth. Res.* 7: 115-176.

COUDRET A., FERRON F., JOLIVET P., JUPIN H., BERGERON E., SOURIE M.C. & COSTES C., 1987 - Carboxylation à l'obscurité chez *Cystoseira elegans* Sauvageau. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci. Paris.* Série III, 305: 177-181.

CRAIGIE J.S., 1963 - Dark fixation of ^{14}C-bicarbonate by marine algae. *Canad. J. Bot.* 41: 317-325.

JOSHI G., DOLAN T., GEE R. & SALTMAN P., 1962 - Sodium chloride effects on dark fixation of CO_2 by marine and terrestrial plants. *Plant. Physiol.* 37: 446-449.

KERBY N.W. & EVANS L.V., 1983 - Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 19: 1-3.

KREMER B.P., 1979 - Light independent carbon fixation by marine macroalgae. *J. Phycol.* 20: 242-247.

KREMER B.P., 1981 - Metabolic implication of non photosynthetic carbon fixation in brown macroalgae. *Phycologia* 20: 242-250.

KREMER B.P. & KUPPERS D., 1977 - Carboxylating enzymes and pathway of photosynthetic carbon assimilation in different marine algae. Evidence for the C_4-pathway. *Planta* 133: 191-196.

KREMER B.P. & MARKHAM J.W., 1979 - Carbon assimilation by different development stages of *Laminaria saccharina*. *Planta* 144: 497-501.

KULKARNI A.H. & NIMBALKAR J.D., 1973 - 3-phosphoglycerate and glucose formation from 14 C aspartate in *Gracilaria corticata* J. Ag., *Photosynthetica* 17: 605-606.

KUPPERS U. & KREMER B.P., 1978 - Longitudinal profiles of carbon dioxide fixation capacities in marine macroalgae. *Plant Physiol.* 62: 49-53.

MORTAIN-BERTRAND A., 1987 - *Influences des fluctuations lumineuses sur le métabolisme photosynthétique et la productivité de diatomées tempérées et antarctiques en culture.* Thèse Doct. Etat Univ. Paris VI, 200p.

NAKAMURA J., ASHINO K. & YAMAMOTO A., 1985 - Distribution of transaminases in marine algae. *Bot. Mag.* 81: 74-78.

PENOT M., DUMAY J. & PELLEGRINI M., 1985 - Contribution à l'étude de la fixation et du transport du ^{14}C chez *Cystoseira nodicaulis* (Fucales, Cystoseiraceae). *Phycologia* 24: 93-102.

WILLENBRINK J., KREMER B.P., SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L., 1979 - Photosynthetic and light independent carbon fixation in *Macrocystis*, *Nereocystis* and some selected Pacific Laminariales. *Canad. J. Bot.* 57: 890-897.

Source : MNHN, Paris